

## Gravidanza insorta con procreazione medicalmente assistita: complicanze più frequenti

G. BELLUOMO, L. GEREMIA, R. IPPOLITO, M. CARIOLA, S.G. VITALE, M.C. SUDANO, G. VALENTI, F. SAPIA, G. VACCARO, A. RAPISARDA, F. SALERNO, A. CIANCI

**RIASSUNTO:** Gravidanza insorta con procreazione medicalmente assistita: complicanze più frequenti.

G. BELLUOMO, L. GEREMIA, R. IPPOLITO, M. CARIOLA, S.G. VITALE, M.C. SUDANO, G. VALENTI, F. SAPIA, G. VACCARO, A. RAPISARDA, F. SALERNO, A. CIANCI

*Il problema dell'infertilità è estremamente diffuso tra le coppie dei nostri giorni che desiderano una gravidanza. Basti pensare che circa il 30% delle coppie italiane risulta essere affetto da problemi di infertilità e quasi 50.000 coppie ricorrono ogni anno alla procreazione medicalmente assistita. Ne deriva quindi un numero sempre maggiore di gravidanze indotte da tecniche di riproduzione assistita che vengono seguite nei nostri Centri. I problemi legati a questo tipo di gravidanze sono vari e sono responsabili dell'insorgenza di diverse patologie che possono complicare più o meno gravemente l'andamento della gravidanza. Essi possono riguardare il feto o la madre e possono avere conseguenze a breve e lungo termine.*

*La nostra review vuole mettere in evidenza le patologie in gravidanza più frequentemente riscontrate nelle gravidanze indotte in base ai numerosi lavori che vari Autori, anche di diversi Paesi, hanno pubblicato a riguardo.*

**SUMMARY:** Pregnancy after assisted reproduction techniques: the most frequent complications.

G. BELLUOMO, L. GEREMIA, R. IPPOLITO, M. CARIOLA, S.G. VITALE, M.C. SUDANO, G. VALENTI, F. SAPIA, G. VACCARO, A. RAPISARDA, F. SALERNO, A. CIANCI

*Infertility is an extremely diffused problem among couples desiring maternity. It is so much diffused that it is possible to make a reflection on the 30% of Italian couples resulting affected by infertility problems, and on the nearly fifty thousand couples annually recurring to assisted reproduction. It follows, therefore, an increasing number of pregnancies induced by assisted reproductive techniques that are followed in our centers. There are several problems with this kind of pregnancies, and they are responsible for the onset of various pathologies that can more or less severely complicate the course of pregnancy. They may relate to the fetus or to the mother and may have consequences in the short and long term.*

*Our review aims to highlight the most commonly encountered disorders in induced pregnancies according to the literature's articles which different authors in various countries have studied about it.*

**KEY WORDS:** Tecniche di riproduzione assistita (ART) - Procreazione medicalmente assistita (PMA) - Patologie in gravidanza indotta - Gravidanza dopo ART.  
Assisted reproduction techniques (ART) - Medical assisted procreation - Disorders in induced pregnancy - Pregnancy after ART.

### Introduzione

Il problema dell'infertilità riguarda circa il 30% delle coppie italiane, percentuale comune alla maggior parte degli altri Paesi occidentali (1).

Ci sono varie cause che determinano l'alta percentuale di coppie infertili ma quelle che si riscontrano più frequentemente in letteratura sono:

- l'epoca tardiva del concepimento;
- mancata o tardiva diagnosi di un'eventuale patologia;
- stress;
- fumo di sigaretta, droghe e alcool;
- malattie sessualmente trasmesse;
- inquinanti ambientali e condizioni lavorative non adeguate (1).

Il fattore temporale si concretizza in tre differenti

Università degli Studi di Catania, Italia  
Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia e Scienze Radiologiche  
Sezione di Ginecologia e Ostetricia

aspetti e condiziona le strategie diagnostiche e terapeutiche (2):

- età della donna: è uno dei principali limiti in quanto questo parametro interferisce di per sé sulla fertilità umana. Con l'età, infatti, aumenta il rischio di abortire spontaneamente. Tale rischio risulta essere pari al 10% circa per donne di età <30 anni, al 18% per i soggetti con età compresa fra i 30 e i 39 anni, al 34% per le donne intorno ai 40 anni. Donne di età superiore ai 35 anni hanno una più elevata probabilità di avere difficoltà riproduttive in relazione ad aneuploidie determinate da non-disgiunzioni cromosomiche;
- esposizione alla probabilità di concepire;
- riserva ovarica: sebbene esistano evidenze scientifiche che la fertilità nella donna diminuisca a partire dai 25-28 anni è unanimemente accettato che la riduzione della capacità riproduttiva nella partner femminile inizi intorno ai 35 anni con un progressivo e considerevole calo fino al completo esaurimento della funzionalità ovarica.

Per l'uomo invece per lo più si tratta di sterilità idiopatica (2); ad ogni modo va tenuto presente che spesso il fattore maschile causa di infertilità è sottostimato (1).

Su molte delle cause di infertilità si può intervenire promuovendo una corretta informazione, la prevenzione, l'adozione di corretti stili di vita, diagnosi tempestive e terapie adeguate di alcune patologie (endometriosi, infezioni..); per altre invece non vi sono interventi adatti all'oro trattamento (menopausa precoce, sindrome di Turner e altre anomalie genetiche, patologie della tiroide).

La legislazione italiana a tal proposito stabilisce che per risolvere problemi di sterilità o di infertilità è consentito il ricorso alla procreazione medicalmente assistita. Il ricorso a tale metodica è possibile quando non vi siano altri metodi terapeutici efficaci per risolvere le cause di sterilità o infertilità (3).

#### *Tecniche di procreazione medicalmente assistita*

Per tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA) si intendono tutti quei procedimenti che comportano il trattamento di oociti umani, di spermatozoi o embrioni nell'ambito di un progetto finalizzato a realizzare una gravidanza.

Questi procedimenti includono: l'inseminazione omologa, la fecondazione *in vitro* ed il trasferimento embrionale, il trasferimento intratubarico dei gameti, il trasferimento intratubarico degli zigoti, il trasferimento intratubarico degli embrioni, la crioconservazione dei gameti e degli embrioni (4).

Le tecniche di PMA sono attualmente rappresentate da una gamma di opzioni terapeutiche a diverso

grado di invasività, sia tecnica che psicologica, sulla coppia.

Si riporta la suddivisione in Tecniche di I, II e III livello, effettuata tenendo conto della loro complessità e del grado di invasività tecnica.

#### Tecniche di I livello

- Inseminazione sopracervicale in ciclo naturale eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale.
- Induzione dell'ovulazione multipla associata ad inseminazione sopracervicale eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale.
- Eventuale crioconservazione dei gameti maschili.

#### Tecniche di II livello (procedure eseguibili in anestesia locale e/o sedazione profonda)

- Fecondazione *in vitro* e trasferimento dell'embrione (FIVET).
- Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI).
- Prelievo testicolare dei gameti (prelievo percutaneo o biopsia testicolare).
- Eventuale crioconservazione di gameti maschili e femminili ed embrioni (nei limiti delle normative vigenti).
- Trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET) per via transvaginale ecoguidata o isteroscopica.

#### Tecniche di III livello (procedure che necessitano di anestesia generale con intubazione)

- Prelievo microchirurgico di gameti dal testicolo.
- Prelievo degli ovociti per via laparoscopica.
- Trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET) per via laparoscopica (5).

## **Materiali e metodi**

Data l'incidenza di infertilità e l'aumento sempre più consistente di ricorso alle tecniche di procreazione assistita, il nostro obiettivo è stato ricercare se le gravidanze medicalmente indotte presentano un'incidenza superiore di patologie in gravidanza e quali sono le complicanze più frequentemente riscontrate.

Abbiamo consultato il sito del Ministero della Salute <http://www.salute.gov.it> ed in particolare la Legge del 19 febbraio 2004, n.40. Abbiamo utilizzato il motore di ricerca PubMed inserendo le parole chiave "assisted reproductive technology and pregnancy outcome", "in vitro fertilization outcome", "intracytoplasmic sperm

*injection outcome*”, “*assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes*”, “*Perinatal outcome and congenital malformations in ART*”, “*Pregnancy course and outcome after ART*”, “*Delivery outcome after infertility*”.

## Risultati

Tra tutti i lavori ne abbiamo considerati circa 43 che focalizzavano l'attenzione su:

- tecniche di fecondazione assistita;
- patologie che complicano le gravidanze indotte;
- patologie più frequenti delle gravidanze indotte in base alla tecnica utilizzata;
- patologie più frequenti nelle gravidanze indotte rispetto alle gravidanze insorte spontaneamente.

Abbiamo altresì considerato le leggi in vigore attualmente in materia di procreazione medicalmente assistita.

## Discussione

Per quanto riguarda la gravidanza da PMA, ci sono molti dati in letteratura che indicano un aumento del rischio di esiti avversi perinatali in seguito al concepimento con tecniche di fecondazione *in vitro* (IVF) e iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI). Sono stati segnalati maggiore incidenza di prematurità, basso peso alla nascita (LBW) e malformazioni per i figli concepiti dopo PMA (6-8).

Ciò può essere ricondotto alla presenza di specifiche condizioni predisponenti:

1. le coppie che si sottopongono a PMA hanno mediamente 5 anni più di quelle che concepiscono spontaneamente (9);
2. fattori di rischio noti come disordini tiroidei, policistosi ovarica e altri associati a maggior rischio di aborto spontaneo sono più frequenti (10);
3. nella sterilità maschile è stata riconosciuta un'associazione fra anomalie spermatiche e anomalie numeriche o strutturali dei cromosomi (0,63% *vs* 0,2%) (11,12);
4. è stata descritta una correlazione fra *time-to-pregnancy* e incremento delle malformazioni fetali anche nelle gravidanze spontanee (13);
5. un fattore che comporta in modo ormai documentato l'aumento di malformazioni fetali è la gemellarità: nella PMA l'incidenza di gravidanze multiple è senza dubbio maggiore che nella popolazione generale (14). Molte delle complicazioni riportate infatti sono in parte imputabili all'elevata percentuale di gravidanze multiple a seguito di PMA: le morbilità materna e peri-

natale associate alle gravidanze multiple sono significativamente più alte in confronto alle gravidanze singole (15,16).

Anche non tenendo conto della pluralità di gestazione, le gravidanze singole dopo IVF o ICSI hanno dimostrato di avere un aumentato rischio di parto pretermine e basso peso alla nascita (6,17,7).

Le prime segnalazioni di una maggior frequenza di iposviluppo fetale e parto pretermine risalgono a 10-15 anni fa (18,19). Sono state poi confermate, in modo coerente, da numerosi altri studi. Tra questi il più importante è quello pubblicato da Schieve et al. (2002), che rifacendosi a 42.463 bambini concepiti tramite procedure complesse di PMA (FIV-ET, ma anche ZIFT e GIFT di tipo omologo o eterologo), ha evidenziato, anche per gravidanze non gemellari concluse a termine, un rischio più che raddoppiato di basso peso (20).

Poiché LBW e parti prematuri sono determinanti importanti di morbilità e mortalità neonatale (21), l'aumentata incidenza di FIVET è di grande preoccupazione sia in termini clinici che in termini di gestione di costi, di risorse umane e di giorni di degenza nei reparti specializzati (22-24).

Una recente meta-analisi ha rielaborato i dati derivanti da altri 15 studi (considerati, tra i molti, i più validi) relativi a 12.283 gravidanze non gemellari, tutte con concepimento ottenuto tramite FIVET (ICSI compresa) (25). Ne è emerso un maggior rischio anche quando le gravidanze non sono gemellari. Tale rischio si manifesta nell'aumento del 60% del numero di SGA, nel numero triplicato di parti fortemente pretermine (a meno di 33 settimane) e raddoppiato di parti pretermine (prima delle 37 settimane), nel numero triplicato di neonati fortemente di basso peso (meno di 1,5 kg) e raddoppiato di neonati di basso peso (meno di 2,5 kg), nel tasso raddoppiato di mortalità perinatale.

Dati sostanzialmente sovrapponibili sono emersi da un'altra recente revisione di 25 studi (26). Anche gli studi più recenti confermano, per le gravidanze singole, una precisa tendenza alla prematurità e al basso peso (6-7,9,27-31), anche se in uno di questi è stata osservata una riduzione del rischio di basso peso a termine di gravidanza nei bambini concepiti nel 2000 (rischio aumentato del 39%) (28) rispetto ai bambini concepiti nel 1996-1997 (rischio raddoppiato) (18,19).

Infine, tre studi hanno evidenziato un maggior rischio di seri danni neurologici, quali la paresi spastica (rischio, nell'insieme, pressochè raddoppiato) (8,32,33) e vari difetti dei neonati alla nascita (34) non rilevato da altri (35).

Un recente studio tedesco, condotto presso l'Università di Lubeca 48 (6) ha esaminato i dati prove-

nienti da un registro nazionale che comprende circa il 70% dei cicli FIVET effettuati in Germania, allo scopo di valutare l'eventuale presenza di una associazione quantitativa diretta tra il peso alla nascita e vari parametri della stimolazione ovarica, tra cui la durata, la quantità di gonadotropine utilizzate e il numero di ovociti raccolti.

Sono stati esaminati 32.416 cicli FIVET effettuati in donne di età compresa tra 25 e 35 anni e che hanno portato ad una gravidanza singola esitata a parto di un neonato vivo. Le gravidanze multiple sono state escluse dallo studio poiché esse sono frequentemente causa della nascita di bambini di basso peso, di elevata incidenza di parto pretermine e di patologie della gravidanza, indipendentemente dal concepimento spontaneo o assistito.

L'analisi statistica, usando come riferimento un ampio gruppo di controllo, rappresentato da circa un milione di maschi e uno di femmine nati da concepimento spontaneo, ha mostrato una relazione diretta tra basso peso alla nascita e i parametri: peso e altezza materni, numero degli embrioni trasferiti e durata dell'infertilità (per quest'ultima la correlazione è però più debole).

La prima relazione era prevedibile, in quanto peso e altezza sono entrambi caratteri ereditari. L'effetto del numero di embrioni trasferiti sul peso alla nascita è stato dimostrato anche da altri studi (36).

Dallo studio non è invece emersa alcuna relazione con l'età materna (a differenza di altri studi) e, dato più rilevante, neppure con i parametri della stimolazione ovarica: durata della stimolazione, consumo di gonadotropine e numero di ovociti raccolti. Nessuna differenza è stata infatti riscontrata nel peso alla nascita confrontando le gravidanze singole ottenute da FIVET con regolare stimolazione ovarica, da FIVET in ciclo naturale modificato, e da concepimento spontaneo in coppie subfertili (6).

Ne deriverebbe che il rischio perinatale sia correlato non solo a tecniche invasive quali ICSI e FIVET ma anche a trattamenti meno invasivi come l'induzione dell'ovulazione (7, 36).

Un più basso peso alla nascita, una maggiore tendenza al parto pre-termine ed un aumento della mortalità perinatale è stata evidenziata in coppie subfertili in cui la gravidanza si sia verificata spontaneamente o con trattamenti che prescindevano da procedure complesse di PMA (37-40).

È ipotizzabile che alla base di un inadeguato sviluppo fetale vi sia una disfunzione placentare in qualche modo derivante dalle procedure complesse di PMA, forse come conseguenza di alterazioni su base epigenetica (41,42).

Segnalazioni di effetti avversi di fecondazione assistita in gravidanza rispetto ai concepimenti natura-

li di pari età comprendono distacco di placenta, diabete gestazionale, la pre-eclampsia e placenta previa (25, 43-47).

Il rischio di feti IUGR (*intra-uterin growth retardation*) sembra essere legato anch'esso alle tecniche di fecondazione assistita (48).

Tassi più elevati di induzione del travaglio e parto operativo con taglio cesareo sono stati associati a gravidanze FIVET, ma tali tassi di intervento variano tra pubblico e privato (31,49-51). Questo dato probabilmente legato non solo alle indicazioni mediche di taglio cesareo ma anche al fattore psicologico della paziente che preferisce questa modalità di parto come elettiva e meno rischiosa per il feto (52-56).

Sicuramente la patologia malformativa legata alla riproduzione assistita è stata negli anni la più studiata.

Già in un lavoro prospettico negli anni '90 (57), è stata studiata la popolazione suddividendo i neonati in base al tipo di concepimento (ICSI o FIVET) e non è stata rilevata alcuna differenza in termini di salute fisica e sviluppo. Inoltre il tasso di malformazioni maggiori era sovrapponibile.

In uno studio caso controllo di qualche anno dopo (58) confrontando i neonati concepiti con ICSI e neonati concepiti spontaneamente, la popolazione studiata non mostrava alcuna differenza in termini di salute fisica e sviluppo e il tasso di malformazioni maggiori era simile.

Purtroppo però, in entrambi questi studi, l'ampiezza delle coorti utilizzate era troppo ridotta per poter trarne delle conclusioni rilevanti.

Nel 2003 Retzliff e Hornstein (59) hanno pubblicato una revisione critica delle malformazioni congenite relative ai bambini "PMA" confrontando i registri di diversi Paesi, ma dalla *review* emergono differenze nei dati fino al 7% (Tabella 1).

I numeri aumentano nelle successive meta-analisi che hanno evidenziato un aumento del rischio di malformazioni fetali dopo FIVET o ICSI del 30% rispetto al concepimento spontaneo senza apparente differenza fra le due tecniche (60-62).

In un lavoro del 2009 pubblicato su *Fertility and Sterility* (34), su quasi 62.000 nati dopo procreazione assistita è stata analizzata l'incidenza di malformazioni che è 1,5 volte superiore rispetto ai nati dopo gravidanza insorta spontaneamente. La maggior parte delle malformazioni sono gastrointestinali, cardiache e muscolo-scheletriche. La stimolazione dell'ovulazione comporta un rischio di malformazione del 2,35%, l'inseminazione intrauterina del 2,89% e la fecondazione in provetta del 3,45%.

Altri studi recenti concordano con questo lavoro rilevando un incremento del rischio di malformazioni nei neonati concepiti in seguito a procedure complesse di PMA (8,62,63).

TABELLA 1 - REVIEW DI RETZLOFF E HORNSTEIN, 2003 (59).

Paese	Autore	Anno	Casistica	Malform.>%	Malform.<%
Australia/Belgio	Kurinkzuk	1997	ICSI(420)	7.4	0.7
			Naturali (100.454)	3.8	0.5
Belgio	Bonduelle	1999	ICSI(1987)	2.3	-
			FIV (130)	4.6	-
Europa	ESHRE	1998	ICSI(807)	2.0	-
Danimarca	Loft	1999	ICSI(738)	2.2	1.2
Inghilterra	Sutcliffe	1999	Naturali (123)	4.1	7.3
			UK registry	5.0	-
			ICSI (123)	4.9	11.0
Svezia	Wennerholm	2000	ICSI (1.139)	3.2	3.5
Usa	Palermo	2000	ICSI (3573)	1.1	0.8
			FIV (3.277)	1.7	1.3
Germania	Ludwig	2000	ICSI (2809)	9.1	-
			Registro	7.2	-
Australia	Hansen	2002	ICSI (301)	8.6	0.3
			FIV (837)	9.0	0.8
			Naturali (4.000)	4.2	0.6
Olanda	Anthony	2002	ICSI+FIV (4.244)	0.7	1.3
			Registro (314.605)	0.5	1.1

Per quanto riguarda la mortalità perinatale, infine, un lavoro recentissimo che ha confrontato gravidanze indotte e gravidanze insorte spontaneamente dal 2002 al 2008, ha riscontrato un effettivo aumento del tasso di mortalità perinatale legato alle tecniche di PMA. (64-66).

## Conclusioni

Molte società scientifiche concordano nel ritenere le gravidanze indotte da tecniche di riproduzione assistita a "maggiore rischio". Questo rischio, come si rileva da numerosi lavori in letteratura, è legato non solo ai fattori "certi" intrinseci a questa tipologia di gravidanze, ma anche a fattori che risultano essere dipendenti dalle tecniche e dal tipo di tecnica utilizzata.

In particolare le gravidanze insorte da procreazione assistita risentono in maniera più evidente dell'età avanzata materna al momento del concepimento e dei rischi correlati alla pluralità di gestazione, rispetto alle gravidanze insorte spontaneamente.

Inoltre dopo aver condotto un'analisi della letteratura esistente abbiamo riscontrato un'incidenza maggiore di alcune patologie in gravidanza nelle gravidanze indotte rispetto alle gravidanze insorte da concepimento spontaneo.

Il parto pretermine ed il basso peso alla nascita risultano essere due complicanze delle gravidanze indotte,

indipendentemente dal numero di feti e dalla tecnica di riproduzione assistita effettuata. Anche l'IUGR è una patologia riscontrata con maggiore frequenza in corso di gravidanza indotta.

Il distacco di placenta, il diabete gestazionale, la pre-eclampsia e placenta previa sono complicanze riscontrate più frequentemente nelle gravidanze insorte da fecondazione assistita, e sono queste complicanze che spesso portano al parto pretermine incrementando così la percentuale di neonati prematuri da questo tipo di gravidanze.

Il tasso di tagli cesarei invece è un dato che varia in base alle circostanze (pubblico e privato) e che risulta essere più alto nelle gravidanze indotte. Questo dato però bisogna considerarlo in funzione delle patologie in gravidanza che già di per sé complicano frequentemente le gravidanze da procreazione medicalmente assistita ed incidono sulle indicazioni mediche per questo tipo di parto.

Per quanto riguarda la patologia malformativa, la più studiata tra tutte risulta incidere maggiormente nelle gravidanze medicalmente assistite sia in seguito a procedure complesse di PMA, sia in seguito a tecniche meno invasive di procreazione.

Infine, analizzando i dati relativi alla mortalità perinatale considerando tale il decesso del neonato entro il 28° giorno di vita, si è riscontrato un tasso maggiore di mortalità nelle gravidanze medicalmente indotte rispetto alle gravidanze spontanee.

## Bibliografia

1. ISS (Istituto Superiore di Sanità) <http://www.salute.gov.it/saluteDonna/paginaInternaMenuSaluteDonna.jsp?id=755&menu=sessuale>.
2. Collins, Spira. Linee Guida Art. 7-Legge 40/2004.
3. Legge 19 febbraio 2004, n. 40 - "Norme in materia di procreazione medicalmente assistita" (testo pubblicato sulla Gazzetta ufficiale n.45 del 24-02-2004).
4. Jouannet P. Evolution of assisted reproductive technologies. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine 2009;19(3): 573-82.
5. Linee Guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita. Art. 7 - Legge n. 40/2004.
6. Ludwig AK, Sutcliffe AG, Diedrich K, et al. Postneonatal health and development of children born after assisted reproduction: a systematic review of controlled studies. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2006;127:3-25.
7. Ombelet W, Martens G, De Sutter P, et al. Perinatal outcome of 12,021 singleton and 3108 twin births after non-IVF-assisted reproduction: a cohort study. Hum Reprod 2006; 21(4): 1025-32.
8. Pinborg A, Loft A, Aaris Henningsen AK, et al.. Infant outcome of 957 singletons born after frozen embryo replacement: the Danish National Cohort Study 1995-2006. Fertil Steril 2010;94(4):1320-7.
9. Katalinic A, Rosh C, et al. Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: a controlled, prospective cohort study. Fertil Steril 2004;81(6):1604-16.
10. Raber W, Nowotny P, et al. Thyroxine treatment modified in infertile women according to thyroxine-releasing hormone testing: 5 year follow-up of 283 women referred after exclusion of absolute causes of infertility. Hum Reprod 2003;18(4): 707-14.
11. Calogero AE, Burrello N, et al. Sperm aneuploidy in infertile men. Reprod Biomed Online 2003;6(3):310-7.
12. Sartorius GA, Nieschlag E. Paternal age and reproduction. Hum Reprod Update 2010;16(1):65-79.
13. Khoshnood B, Bouvier-Colle MH, Leridon H, et al. Impact of advanced maternal age on fecundity and women's and children's health. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2008;37(8): 733-47.
14. Fauser BC, Devroey P, et al. Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. Lancet 2005;365(9473):1807-16.
15. Luke B, Keith LG. The contribution of singletons, twins and triplets to low birth weight, infant mortality and handicap in the United States. J Reprod Med 1992;37(8):661-6.
16. Callahan TL, Hall JE, et al. The economic impact of multiple-gestation pregnancies and the contribution of assisted-reproduction techniques to their incidence. N Engl J Med 1994; 331(4):244-9.
17. Doyle P, Beral V, Maconochie N. Preterm delivery, low birth-weight and small-for-gestational age in liveborn babies resulting from in-vitro fertilization. Hum Reprod 1992;7:525-528.
18. Gissler M, Malin Silverio M, Hemminki E. In-vitro fertilization pregnancies and perinatal health in Finland 1991-1993. Hum Reprod 1995;10(7):1856-1861.
19. Tanbo T, Dale PO, Lunde O, Moe N, Abyholm T. Obstetric outcome in singleton pregnancies after assisted reproduction. Obstet Gynecol 1995;86(2):188-92.
20. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, et al. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. NEJM 2002;346:731-7.
21. Copper RL, Goldenberg RL, Creasy RK, et al. multicenter study of pre-term birth weight and gestational age specific neonatal mortality. Am J Obstet Gynecol 1993;168:78-84.
22. World Health Organization WHO: recommended definition, terminology and format for statistical tables related to the perinatal period and use of a new certificate for cause of perinatal deaths. Modification recommended by FIGO as amended October 14, 1976. Acta Obstet Gynecol Scand 1977;56:247-253. Livello VI (ACOG III).
23. Craig E, et al. Socioeconomic status and preterm birth: New Zealand trends, 1980 to 1999. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2002; 86:F142-146. Livello IV (ACOG II-2).
24. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, et al. A review of premature birth and subclinical infection. Am J obstetrics Gynecology 1992;166(5):1515-28.
25. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, et al. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. Obstet Gynecol 2004;103:551-563.
26. Helmerhorst FM, Perquin DAM, Donker D, et al. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. BMJ 2004;328:261-4.
27. McGovern P, Liorens AJ, Skurnick JH, et al. Increased risk of preterm birth in singleton pregnancies resulting from in vitro fertilization-embryo transfer or gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis. Fertil Steril 2004;82:1514-20.
28. Schieve LA, Ferre C, Peterson HB, et al. Perinatal outcome among singleton infants conceived through assisted reproductive technology in the United States. Obstet Gynecol 2004a; 103:1144-53.
29. McDonald SD, Han Z, Mulla S, Ohlsson A, et al. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization twins: a systematic review and meta-analyses. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2010;148(2):105-13.
30. Allen VM, Wilson RD, Cheung A. Pregnancy outcomes after assisted reproductive technology. J Obstet Gynaecol Can 2006;28(3):220-50.
31. Zolta N Kozinsky, JA' Nos Za' Dori, Hajnalka Orvos, et al. Obstetric and neonatal risk of pregnancies after assisted reproductive technology: a matched control study. Acta Obstet Gynecol Scand 2003;82:850-856.
32. Strömberg B, Dahlquist G, Ericson A, et al. Neurological sequelae in children born after invitro fertilisation: a population-based study. Lancet 2002;359:461-5.
33. Lidegaard O, Pinborg A, Andersen AN. Imprinting diseases and IVF: Danish national IVF cohort study. Hum Reprod 2005;20:950-4.
34. El-Charaf D, Yang Q, Gao J, et al. Risk of birth defects increased in pregnancies conceived by assisted human reproduction. Fertil Steril 2009;92(5):1557-61.
35. Bonduelle M, Wennerholm UB, Loft A, et al. A multi-center cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. Hum Reprod 2005;20:413-9.
36. Min JK, Claman P, Hughes E, et al. Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No. 182, September 2006. JOINT\_SOGC-CFAS. Int J Gynaecol Obstet 2008;102(2):203-16.
37. Basso O, Baird DD. Infertility and preterm delivery, birth-weight and caesarean section: a study within the danish national birth cohort. Human Reprod 2003;18:2478-84.
38. Gleicher N. Modern obstetrical and infertility care may increase the prevalence of disease: an evolutionary concept. Fertil Steril 2003a;79:249-52.

39. Gleicher N. Safety issues in assisted reproduction technology. A rebuttal. *Hum Reprod* 2003b;18:1765-6.
40. Poikkeus P, Gissler M, Unkila-Kallio L, et al. Obstetric and neonatal outcome after single embryo transfer. *Hum Reprod* 2007;22(4):1073-9.
41. Cetin I, Cozzi V, Antonazzo P. Fetal development after assisted reproduction- a review. *Placenta* 2003;24:S104-13.
42. Lucifero D, Chaillet JR, Trasler JM. Potential significance of genomic imprinting defects for reproduction and assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 2004;10:3-18.
43. Shevell T, Malone FD, Vidaver J, et al. Assisted reproductive technology and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2005;106(5):1039-1045.
44. Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG, et al. In vitro fertilization in Sweden: obstetric characteristics, maternal morbidity and mortality. *BJOG* 2005;112(11):1529-1535.
45. Oschenkuhn R, Strowitzki T, Gurtner M, et al. Pregnancy complications, obstetric risks and neonatal outcome in singleton and twin pregnancies after GIFT and IVF. *Arch Gynecol Obstet* 2003;268:256-261.
46. Allen C, Bowdin S, Harrison RE, et al. Pregnancy and perinatal outcomes after assisted reproduction: a comparative study. *Ir J Med Sci* 2008;177(3):233-41.
47. Romundstad LB, Romundstad PR, Sunde A, et al. Increased risk of placenta previa in pregnancies following IVF/ICSI; a comparison of ART and non-ART pregnancies in the same mother. *Hum Reprod* 2006;21(9):2353-8.
48. Eamonn R. Maher, Masoud Afnan, Christopher L, et al. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: Epigenetics, imprinting, ART and icebergs? *Hum Reprod* 2003;18(12):2508-2511.
49. Verlaenen H, Cammu H, Derde MP, et al. Singleton pregnancy after in vitro fertilization: expectations and outcome. *Obstet Gynecol* 1995;86:906-910.
50. Koivurova S, Hartikainen AL, Gissler M, et al. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after in vitro fertilization. *Hum Reprod* 2002;17:1391-1398.
51. Reubinoff BE, Samueloff A, Ben-Haim M, et al. Is the obstetric outcome of in vitro fertilized singleton gestations different from natural ones? A controlled study. *Fertil Steril* 1997;67:1077-1083.
52. Shorten A, Shorten B, et al. Making choices for childbirth: a randomized controlled trial of a decision-aid for informed birth after cesarean. *Birt* 2005; 32(4):252-61.
53. Renner RM, Eden KB, et al. Informational factors influencing patient's childbirth preferences after prior cesarean. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196(5):e 14-6.
54. Frost J, Shaw A, et al. Women's view on the use of decision aids for decision making about the method of delivery following a previous cesarean section: qualitative interview study. *BJOG* 2009;116(7):896-905.
55. Ministero della salute. Lo stato di salute delle donne in Italia. Primo rapporto sui lavori della Commissione Salute della Donna. Roma, marzo 2008.
56. Sistema nazionale per le linee guida. Taglio cesareo: una scelta appropriata e consapevole. SNLG-ISS, Roma, 2010. [http://www.snlgi-iss.it/cms/files/LG\\_cesareo\\_comunicazione.pdf](http://www.snlgi-iss.it/cms/files/LG_cesareo_comunicazione.pdf).
57. Bonduelle M, Legein J, et al. Comparative follow-up study of 130 children born after intracytoplasmic sperm injection and 130 children born after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1995;10(12):3327-31.
58. Sutcliffe AG, Taylor B, et al. Outcome in the second year of life after in-vitro fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study. *Lancet* 2001;357(9274):2080-4.
59. Retzliff MG, Hornstein MD. Is intracytoplasmic sperm injection safe? *Fertil Steril* 2003;80(4):851-9.
60. Hansen M, Bower C, et al. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects—a systematic review. *Hum Reprod* 2005;20(2):328-38.
61. Lie RT, Lyngstadaas A, et al. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2005;34(3):696-701.
62. Rimm AA, Katayama AC, et al. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet* 2004;21(12):437-43.
63. Schieve LA, Rasmussen SA, Buck GM, et al. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes? *Obstet Gynecol* 2004b;103:1154-63.
64. Del Rayo Rivas-Ortiz Y, Hernández-Herrera RJ. Difference between perinatal mortality in multiple pregnancies obtained spontaneously versus assisted reproduction. *Ginecol Obstet Mex* 2010;78(6):316-21.
65. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, et al. Le cause di morte nei bambini: le stime dell'Oms. *Lancet* 2005;365:1147-52.
66. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, et al. Births: Final data for 2006. *National Vital Statistics Reports* 2009;57(7):1-102.